

Über den Einfluß des Fibrinogens auf die Kreuzprobe

(Ein Beitrag zu den möglichen Ursachen von Transfusionsstörungen)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

in Erlangen-Nürnberg

1960

vorgelegt von

Gudrun Wehlte

aus Dresden

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Dekan: Prof. Dr. med. Schreck

Tag der mündlichen Prüfung:

5. Dez. 1960



Über die Rolle des Fibrinogens bei Blut- und Plasmatransfusionszwischenfällen*

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und G. WEHLTE

Die Aufklärungsarbeiten zur Frage von Transfusionszwischenfällen haben in den letzten Jahrzehnten durch Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Immunologie und der Eiweißbiochemie zu einer weitgehenden Verbesserung der Vorsichtsmaßnahmen bei Blut- und Plasmaübertragungen geführt (4, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 18, 22, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 39, 41, 43, 44, 47, u. a. m.). Dennoch werden an internen wie chirurgischen Kliniken trotz sorgfältiger Voruntersuchungen der Empfänger- und Spenderseren immer wieder Transfusionszwischenfälle mit oft erheblichen Rückwirkungen auf Kreislauf und Stoffwechsel beobachtet.

In solchen Fällen steht zu vermuten, daß sich in vivo Vorgänge abspielen, die in vitro nicht demonstrierbar sind oder daß im Serum bzw. Plasma des Empfängers oder des Spenders

* Herrn Prof. Dr. N. Henning zum 65. Geburtstag gewidmet.

noch Faktoren enthalten sind, die den bisherigen Untersuchungsmöglichkeiten nicht zugänglich geworden sind. Serologisch bedingte Transfusionszwischenfälle werden erfahrungsgemäß nach spezifischen und nach unspezifischen Ursachen unterschieden. Unter den spezifischen Ursachen spielen neben den Blutgruppenfaktoren des ABO-Systems, des Rh-Faktors, des Lewis-, Duffy-, MN- und P-Systems zur Hauptsache noch Antigenfaktoren des Leukozyten- und Thrombozyten-systems (10, 23, 28, 37) und bis zu einem gewissen Grad auch die pathologische Neigung zur Antikörperbildung jeglicher Art, so die Entwicklung von Isoagglutininen, Wassermann-Reaginen und allenfalls antigen wirksame Inhibitoren des Gerinnungssystems eine praktisch bedeutsame Rolle. Darüber hinaus findet sich eine große Anzahl unspezifischer Ursachen von Transfusionszwischenfällen. Dazu gehören etwa toxische bzw. allergische Erscheinungen (33), wie dies auf Dextran- und Periston-Infusionen beobachtet wurde, ferner bakteriell bedingte Transfusionsstörung (39), wie z. B. durch Übertragung von Lues, Malaria, Bang, Hepatitis (18), weiterhin die durch Infusionen und Transfusionen bedingten Kreislaufkomplikationen (25, 46), hier vor allem das akute Linksversagen, schließlich Transfusionszwischenfälle durch Luftembolien sowie bei hämolytischen Anämien (23).

Insbesondere gehören hierzu aber die durch Dysproteinämien bedingten Zwischenfälle (25, 27, 31, 35, 44, 47 u. a. m.). Eiweiß-unverträglichkeiten werden sehr oft bei Kranken mit malignen Tumoren, Lebererkrankungen und akut-entzündlichen Prozessen, wie insbesondere bei akuten Nierenerkrankungen (27), aber auch bei Patienten mit nephrotischem Syndrom, mit Blutkrankheiten, Myelomatose und auch Makroglobulinämie beobachtet. Die Häufigkeit von Transfusionsstörungen bei solchen Erkrankungen beträgt nach Ott (31) 2 bis 4%. Bei der Untersuchung der Frage, ob Dysproteinämien Ursache von Transfusionsstörungen sein können, muß selbstverständlich erst die Möglichkeit einer Übertragung von krankhaftem Spender-eiweiß ausgeschlossen sein, zumal nachgewiesen wurde, daß bei bewährten „gesunden“ Dauerspendern Serumeiweißveränderungen auftreten können, die genau jenen entsprechen, wie sie sonst bei Kranken mit Infektionskrankheiten oder degenerativen Prozessen angetroffen werden (42). Bei schweren Dysproteinämien zeigt die elektrophoretische Konstellation des

Serums neben einer Verminderung der Albuminfraktion häufig eine Vermehrung der β - und γ -Globuline oder das Auftreten atypischer Eiweißfraktionen i. S. einer Heteroproteinämie. Zu den Heteroproteinen gehören die Paraproteine vom Typ der Myelomproteine und der Waldenström-Makroglobuline sowie die Immunproteine, wie sie z. B. beim Fleckfieber oder Typhus nachgewiesen werden (31). Wenn auch solche Dysproteinämien nicht konstant zu Transfusionszwischenfällen führen, so ist dennoch der Anreicherung von pathologischen Proteinen des β/γ -Globulin-Systems erfahrungsgemäß eine besondere Bedeutung als ursächliche Faktoren für Transfusionsstörungen beizumessen. Banale Dysproteinämien, die ebenfalls mit einer relativen Vermehrung der β/γ -Globuline einhergehen können — man denke an die Serumeiweißveränderungen nach akuten und insbesondere bei chronischen Blutungen oder im Gefolge alimentär bedingter Eiweißmangelzustände — stellen dagegen eine weit weniger große Gefahr bei Blut- oder Plasmaübertragungen dar. Diese Erfahrungstatsachen legten den Gedanken nahe, ob nicht auch das Fibrinogen als in vivo stets vorhandenes Protein vom Typ der β/γ -Globuline, wenn auch mit biologischen Eigenschaften, unter bestimmten pathologischen Bedingungen, etwa bei starker Vermehrung, einen Einfluß auf Transfusionsreaktionen haben kann.

Die Beobachtung einer Transfusionsunverträglichkeit bei zwei Patientinnen, bei welchen zunächst, außer einer erhöhten Blutkörperchen senkungsgeschwindigkeit (BKS), keine pathologischen Befunde im Blut erhoben worden waren, gab Anlaß zu einer genauen Analyse der entsprechenden Empfängerseren. Eine tiefgreifende Dysproteinämie konnte auf Grund der Papierelektrophorese ausgeschlossen werden. Die Serumlabilitätsteste waren unauffällig. Desgleichen fand sich kein Anhalt für das Vorhandensein von Isoantikörpern, zumal eine der Patientinnen eine Ersttransfusion, die andere eine zweite Transfusion im Abstand von 5 Tagen erhalten hatte. Dagegen wurde bei der schließlich vorgenommenen Plasmaelektrophorese eine deutliche Vermehrung der Fibrinogenfraktion erfaßt.

Diese Beobachtungstatsachen rechtfertigen es, zu untersuchen, ob eine Vermehrung des Fibrinogens, das bei den üblichen Kreuzproben mit Serum nicht berücksichtigt wird, einen Einfluß auf den Ausfall der Kreuzprobe —

bei Ansetzen mit Plasma! — und somit auf die Bluttransfusion haben kann. Es wurde deshalb in der vorliegenden Arbeit untersucht:

1. ob unterschiedliche Ergebnisse zwischen der mit Serum und der mit Plasma angesetzten Kreuzprobe von Gesunden mit den entsprechenden Spendererythrozyten faßbar werden,

2. ob in pathologischen Fällen mit Vermehrung der ϕ -Fraktion unterschiedliche Ergebnisse der Kreuzproben mit Serum und mit Plasma faßbar werden und

3. inwieweit der Grad einer Fibrinogenvermehrung einen Einfluß auf das Resultat der Kreuzprobe erkennen läßt.

Versuchsanordnung und Methodik

1. Versuchsanordnung :

Es wurden Serum und Plasma von

- a) Gesunden
- b) Patienten mit Fibrinogenvermehrung bei hoher BKS ohne tiefergreifende Dysproteinämie im Serum und
- c) Patienten mit hoher BKS, vorherrschender Dysproteinämie und mit Fibrinogenvermehrung

gegen die blutgruppengleichen Spendererythrozyten gekreuzt. Darüber hinaus wurde in jedem der untersuchten Fälle nach Zusatz einer Fibrinogenlösung bestimmter Konzentration (s. u.) zu Serum und Plasma ebenfalls die Kreuzprobe mit blutgruppengleichen Spendererythrozyten angesetzt.

Es gehörten also jeweils 4 Ansätze zusammen:

1. Empfängerserum, gekreuzt mit gruppengleichen Spendererythrozyten,
 2. Empfängerplasma, gekreuzt mit gruppengleichen Spendererythrozyten,
 3. Empfängerserum mit Fibrinogenzusatz, gekreuzt wie oben,
 4. Empfängerplasma mit Fibrinogenzusatz, gekreuzt wie oben.
- Das Ergebnis der Kreuzprobe wurde nach halbstündigem Belassen in der feuchten Kammer und anschließendem vorsichtigem Verrühren mittels eines Glasstabes unter dem Mikroskop auf Agglutination abgelesen.

2. Blutentnahme (Serum- und Plasmagewinnung):

Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion einer Armvene unter den üblichen Kautelen (34). Das Serum wurde vom frisch entnommenen Venenblut abzentrifugiert, das Plasma wurde durch Zusatz von 0,1 ml Heparin* auf 5 ml Blut gewonnen**.

In Vorversuchen wurden auch Plasmaproben mit Natrium citricum verwendet, die jedoch im Hinblick auf die zum Vergleich mit herangezogene Plasmaelektrophorese auf Papier (38) unberücksichtigt blieben.

3. Blutgruppenbestimmung:

Der Nachweis der Blutgruppen, Untergruppen und des Rh-Faktors erfolgte in üblicher Weise (7, 8, 9, 19). Verwendet wurde die Objektträgermethode, wobei in Porzellanobjektträgern mit Hohlsliff 0,05 ml Testserum und 0,05 ml der entsprechenden Erythrozytensuspension gebracht werden, gut gemischt wird und nach 5 Min. Wartens unter vorsichtigen Schaukelbewegungen das Ergebnis abgelesen wird.

4. Ansetzen der Kreuzproben (7, 8, 9, 19):

Nachweis der Verträglichkeit von Spender- und Empfängerblut mit Hilfe des Objektträger-Testes: Das Patientenserum wird scharf zentrifugiert und wegen eventuell vorhandener Hämolsine nicht inaktiviert. 2 Tr. des Empfängerserums werden nebeneinander auf einen Objektträger aufgebracht. Die Spendererythrozyten-Suspension (3%ige Aufschwemmung gruppengleicher Spendererythrozyten in A B - Serum oder Eigenserum) wird aufgeschüttelt; mit einer Pipette oder Platinoöse wird ihr ein Tropfen entnommen, zu dem einen Tropfen des Empfängerserums hinzugefügt und vorsichtig verrührt. Dann wird das Empfängerblut aufgeschüttelt, diesem ebenfalls

* Liquemin der Deutschen Hoffmann-La Roche.

** Praktisch wird hierbei 1 Tr. Heparin in ein für die Blutaufnahme vorbereitetes Röhrchen gegeben und Blut aus der Punktionskanüle hinzugetropf, oder man benetzt die zur Blutentnahme vorgesehene Spritze mit Heparin und zieht 5 ml Blut damit auf. Danach 2maliges Kippen des Röhrchens und stehenlassen, bis Plasma und korpuskuläre Elemente sich klar geschieden haben.

ein Tropfen entnommen und mit dem anderen Tropfen des Empfängerserums verrührt. Ebenso wird die Kreuzprobe von Spenderserum gegen Empfängererythrozyten angesetzt. Danach erfolgt das Einlegen der Objektträger in eine feuchte Kammer. Nach 20 bis 30 Min. Prüfung auf Agglutination unter dem Mikroskop.

Nach demselben Prinzip wird das Heparin-Plasma mit gruppengleichen Spendererythrozyten gekreuzt. Zur Kontrolle wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen eine dritte Kreuzprobe mit Natriumzitrat-Plasma (0,4 ml einer 3,8%igen sterilen Natriumzitratlösung ad 2,0 ml mit Blut aufgefüllt) angesetzt.

Anschließend Vergleich der Ergebnisse unter dem Mikroskop.

5. Prüfung des Fibrinogens:

a) Prüfung des hier verwendeten isolierten Fibrinogens*:

Papieroelektrophoretisch sowie immunoelektrophoretisch gegen Antihuman-Normalserum**

b) Fibrinogen im Plasma sowie nach Zusatz zu Serum wurden

ebenfalls jeweils papieroelektrophoretisch und auch immunoelektrophoretisch untersucht.

c) Beobachtung der Spontanreaktionen des Fibrinogens

nach längerem Stehen, nach ständigem Rühren mit einem Glasstab, nach Einwirken auf eine Suspension gewaschener Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung und nach Zusatz zu Serum.

6. Herstellung der Fibrinogenlösungen:

Es wurden Fibrinogenlösungen verschiedener Konzentration hergestellt, um den Grad der für eine deutliche Agglutinationsreaktion notwendigen Fibrinogenkonzentration erfassen zu können. Im einzelnen wurden 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg sowie 30 mg Humanfibrinogen in je 1 ml physiologischer Kochsalzlösung im Wasserbad bei 37° C gelöst.

* Fibrinogen Behringwerke

** Antihumanserum vom Pferd, Institut Pasteur, Paris.

7. Papier- und Agargel-Elektrophorese:

Alle Seren und Plasmen wurden papierelektrophoretisch nach den Angaben von Grassmann und Hannig analysiert. Für die Plasmaelektrophorese auf Papier eignet sich nur das mit Heparin gewonnene Plasma (38).

Zur Charakterisierung des isolierten Fibrinogens wurde u. a. die Immunoelktrophorese nach Grabar und Williams angewandt. Methodische Einzelheiten sind dem einschlägigen Schrifttum (14, 16, 17, 45) zu entnehmen.

Ergebnisse

Zur Charakterisierung des hier verwendeten isolierten Fibrinogens und des Plasmafibrinogens:

1. Bei der Analyse des isolierten Fibrinogens lassen sich papierelektrophoretisch im wesentlichen 2 Fraktionen differenzieren, von welchen die eine (F-Fraktion) dem Fibrinogen zuzuordnen ist, die andere (A-Fraktion) zur Hauptsache aus Proteinen der Albumin/ α_1 -Globulin-Gruppe bestehen dürfte. Die F-Komponente, die im übrigen bei höher konzentrierter Fibrinogenlösung zwei Unterfraktionen erkennen läßt, beträgt 70 rel.%, während die A-Fraktion 30 rel.% ausmacht.

Immunoelktrophoretisch lassen sich im Bereich der F-Fraktion 3 Präzipitationslinien, eine sehr stark auspräzipitierte, weitbogige und von der Auftragstelle gering kathodenwärts wandernde Linie, sicher die Fibrinogenfraktion, sowie zwei schwächer dargestellte Präzipitate, die mehr im Bereich der β_2 -Globuline liegen, differenzieren. Außerdem wird eine, vom Start anodenwärts gewanderte, relativ deutlich auspräzipitierte Komponente sichtbar, die u. E. einem Albuminrest entspricht.

2. Bei der Papierelektrophorese von Plasma wandert das Fibrinogen an typischer Stelle zwischen β - und γ -Globulin (s. a. bei 38). Immunoelktrophoretisch findet sich das Plasmafibrinogen als relativ kurzbogige, vom Auftragstrich nur gering kathodenwärts gewanderte Präzipitationslinie (s. a. bei 14).

In 4 Fällen mit ausgeprägter Dysproteinämie — bei vorherrschender Zunahme der β - und γ -Globuline — war die φ -Fraktion papierelektrophoretisch nicht genügend scharf gegen die benachbarten β/γ -Globuline abzugrenzen.

Bei Zusatz von Fibrinogen zu Serum oder Plasma erscheint die φ -Fraktion nach elektrophoretischer Trennung dieser Proteingemische hinter dem γ -Globulin (Papier) bzw. im Bereich der Auftragstelle (Agar), d. h. das zugesetzte Fibrinogen läßt sich seinem ursprünglichen Milieu (Plasma) nicht mehr eingliedern, es bleibt praktisch an der Auftragsstelle liegen.

3. Die weitere Prüfung des Fibrinogens ergab außerdem, daß eine Fibrinogenlösung nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur und bei 37° C nicht gelatinisiert und auch nicht ausflockt, sondern klar bleibt.

Ständiges Rühren mit einem Glasstab ergibt ebenfalls keine Veränderung der Lösung.

Setzt man Fibrinogen einer Suspension gewaschener Erythrozyten zu, so läßt sich unter dem Mikroskop eine der Agglutination ähnliche Zusammenlagerung der Erythrozyten beobachten, die jedoch leicht wieder zu lösen ist.

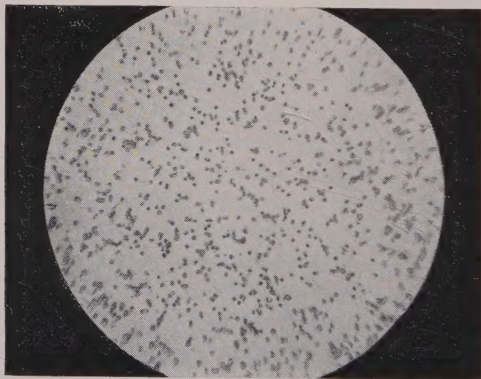


Abb. 1 zeigt das Ergebnis der Kreuzprobe zwischen Empfängerserum (aus Gruppe II) und blutgruppengleichen Spendererythrozyten

Setzt man Fibrinogen einem Serum zu, so bildet sich nach 2 bis 3 Stunden ein elastisches Koagulum, das transparent bleibt. Man bezeichnet diesen Vorgang besser Gelatinierung (48).

Die Ergebnisse der Kreuzproben lassen im einzelnen folgendes erkennen:

1. Bei Gruppe I (Tab. 1), d. h. bei Gesunden, wurde in keinem Falle bei den nichtangereicherten Seren und Plasmen eine Agglutination beobachtet. Bei Zusatz von Fibrinogen zu den gleichen Präparaten konnte jeweils sowohl im Serum als auch im Plasma eine Agglutination festgestellt werden, wobei durchweg die Agglutinationsintensität im Plasma stärker war als im Serum.

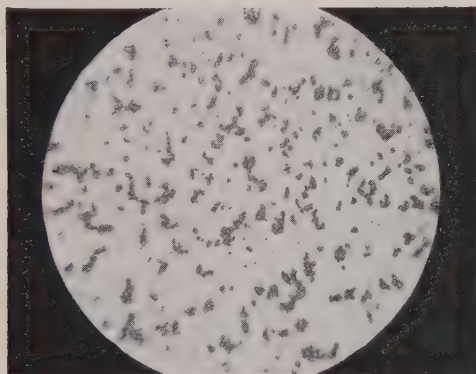


Abb. 2 zeigt den Ausfall der Kreuzprobe zwischen Empfängerplasma desselben Patienten mit blutgruppengleichen Spendererythrozyten (zugrunde lag in diesem Falle eine hohe BKS und eine Vermehrung der Fibrinogenfraktion in der Plasmaelektrophorese).

2. Bei Gruppe II (Tab. 2) zeigte die Kreuzprobe des unversetzten Serums niemals eine Agglutination (s. a. Abb. 1). Die Kreuzprobe mit Heparin-Plasma ergab jedoch in 6 Fällen eine Agglutination (Abb. 2). Dabei handelte es sich um Plasma von Patienten, deren Senkungsreaktion (2-Stundenwert) zwischen 65 und 124 mm lag und deren Fibrinogenfraktion im Plasma den Normalwert von durchschnittlich 6 rel. % (Papieroelektrophorese) überschritt. In 4 Fällen war mit Heparin-Plasma keine Agglutination zu erkennen. Die BKS dieser Patienten

Tab. 1: Gruppe I

Name und Diagnose	Alter	Blut-Gruppe	BKS	Elektrophorese					Kreuzproben			
				Albumin	Globuline			γ	Serum	Heparin Plasma	Serum mit Fibrinog.	Plasma mit Fibrinog.
					α ₁	α ₂	β					
H., W. Ulcus duod.	30	0, D	4/8	Serum 56,11 Plasma 60,66	5,33 4,22	10,66 10,03	13,65 10,56	— 6,56	—	—	+	++
G., H.	31	0, rh	4/12	Serum 62,75 Plasma 60,15	4,98 3,76	7,37 6,58	10,96 10,90	— 3,95	—	—	++	+++
W., G.	24	0, Rh	5/11	Serum 54,92 Plasma 54,95	5,36 5,83	9,73 8,92	11,84 10,83	— 5,09	—	—	++	+++
T., M.	52	A ₁ , cde	3/7	Serum 65,08 Plasma 63,83	4,99 3,19	6,51 5,32	10,41 10,64	— 4,26	—	—	+	+++
B., M.	28	B, Rh	7/13	Serum 57,54 Plasma 57,26	4,76 4,03	7,54 6,45	12,90 12,10	— 5,44	—	—	+	+++
B., G.	37	B, D	3/9	Serum 66,46 Plasma 70,05	5,93 3,48	6,54 5,08	8,79 10,16	— 3,21	—	—	+	+++
Sch., G.	42	A ₂ , d	2/7	Serum 70,77 Plasma 74,61	4,62 4,05	7,69 5,20	7,69 7,80	— 3,47	—	—	+	+++
Sch., R.	51	B, rh	5/9	Serum 72,44 Plasma 70,81	4,83 4,34	6,21 5,49	6,90 7,80	— 2,89	—	—	+++	+++
St., A.	63	B, D	3/8	Serum 64,65 Plasma 57,71	3,02 4,17	7,55 6,25	10,88 11,46	— 4,79	—	—	+	+++
N., R.	26	A ₁ , d	3/6	Serum 70,18 Plasma 69,19	4,17 3,59	6,58 6,05	8,77 8,13	— 4,16	—	—	+	+++

Tab. 2: Gruppe II

Name und Diagnose	Alter	Blut-Gruppe	BKS	Elektrophorese						Kreuzproben			
				Albumin	Globuline			Serum	Heparin Plasma	Serum mit Fibrinog.	Plasma mit Fibrinog.		
					α_1	α_2	β					γ	
H., A. Pleuritis exs. chronica	52	B, D	82/124	Serum 54,29 Plasma 51,04	3,81 3,46	8,57 7,52	11,05 10,04	— 9,08	— 22,29 18,86	— +++	++	— ++	
Ub., B. Gastritis	51	0, d	35/65	Serum 60,44 Plasma 57,14	3,20 2,90	11,79 11,00	9,76 7,72	— 7,72	14,82 13,51	— +	(+)	— ++	
E., Chr. Lymphogranulomatose	17	B, D	40/92	Serum 57,14 Plasma 55,34	6,12 4,80	12,25 10,28	9,39 8,23	— 7,30	15,10 14,05	— —	+	— ++	
H., Gr. Perforiertes Gallenblasen-Ca.	69	B, d	23/44	Serum 56,45 Plasma 57,35	4,66 2,82	10,57 5,63	10,57 9,26	— 7,45	17,56 17,51	— —	—	— ++	
K., B. Polyarthritis	86	B, D	70/104	Serum 50,74 Plasma 46,27	4,86 3,77	7,40 11,32	10,15 12,08	— 8,68	26,85 18,87	— —	(+)	— ++	
H., A. Pleuraerguß unbek. Genese	57	B, D	58/90	Serum 54,29 Plasma 51,04	3,81 3,46	8,57 8,56	11,05 10,04	— 7,96	22,29 18,86	— —	+	— ++	
K., F. Enzephalitis	58	0, D	105/111	Serum 50,91 Plasma 48,96	4,96 3,58	9,92 8,66	9,42 10,36	— 8,47	24,79 19,96	— —	+	— ++	
O., H. Ulkus ventr.	48	A ₁ /cde	17/42	Serum 59,32 Plasma 57,58	4,59 4,09	9,20 8,90	10,53 9,02	— 7,22	16,36 13,19	— —	—	— ++	
O., F. Pankreatitis	39	A ₂ cde	21/46	Serum 60,56 Plasma 57,70	4,44 3,65	5,56 4,51	8,61 7,52	— 8,05	20,83 18,57	— —	—	— (+)	
B., R. Fieberh. Infekt	23	A ₁ /d	18/42	Serum 49,46 Plasma 48,22	4,30 4,63	8,07 9,02	11,29 10,73	— 7,88	26,88 19,51	— —	—	— ++	

war zwar erhöht, sie lag jedoch insgesamt tiefer als bei den vorher genannten. In 3 Fällen lag dabei der Fibrinogenwert im Bereich der Norm, in einem Fall zeigte er eine leichte Erhöhung gegenüber der Norm.

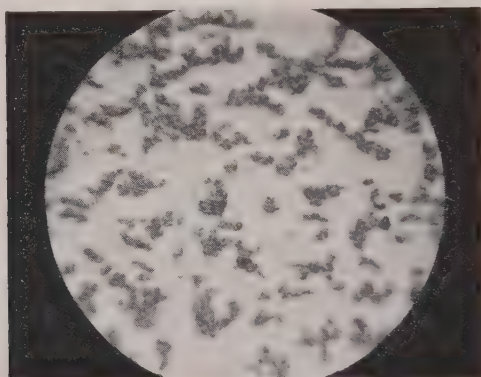


Abb. 3 zeigt den Ausfall der Kreuzprobe zwischen Empfänger-serum (Serum desselben Patienten wie in Abb. 1 und 2), das einen Fibrinogenzusatz im Verhältnis 1 : 1 erhalten hatte, mit blutgruppengleichen Spendererythrozyten

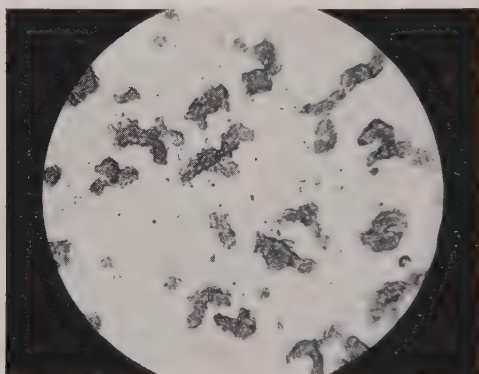
Alle mit Fibrinogen versetzten Seren und Plasmen dieser Gruppe II zeigten starke Agglutination (Abb. 3 und 4), wobei der Grad der Agglutination unabhängig von der Höhe der BKS und der Fibrinogenvermehrung im Ausgangspräparat war. Jedoch zeigte auch hier das Plasma jeweils eine wesentlich stärkere Agglutination als das Serum.

3. Bei Gruppe III (Tab. 3) zeigten bereits 4 Fälle bis 2fach positive Agglutinationsreaktionen mit unversetztem Serum; diese Reaktionen waren im übrigen auch mit Spendererythrozyten verschiedener gruppengleicher Spender reproduzierbar. Das Heparin-Plasma der 4 genannten Patienten agglutinierte ebenfalls einwandfrei die entsprechenden Spendererythrozyten. Bei diesen Kranken lag jeweils eine hohe BKS sowie eine Dysproteinämie

T a b. 3: Gruppe III

Name und Diagnose	Alter	Blut-Gruppe	BKS	Elektrophorese					Kreuzproben						
				Albumin	Globuline				Serum	Plasma Heparin	Serum mit Fibrinog.	Plasma mit Fibrinog.			
					α_1	α_2	β	γ							
G., A. Nephrose	46	A $\frac{2}{1}$ /d	90/122	Serum 38,69 Plasma 37,50	7,30 5,00	26,28 20,83	16,79 15,59	— 14,41	— —	10,95 11,67	— —	— —	— —	— —	— —
F., E. Osteoporose	87	B/D	85/115	Serum 42,95 Plasma 43,29	9,20 6,49	13,09 12,99	14,32 12,77	— 8,66	— —	20,45 15,80	— —	— —	— —	— —	— —
Sch., B. Chron. Poly- arthritis	61	0/cde	109/140	Serum 41,41 Plasma 39,42	10,50 7,96	18,70 13,56	9,54 9,83	— 11,87	— —	19,85 17,36	— —	— —	— —	— —	— —
K., A. Morbus Kahler	62	A $\frac{2}{1}$ /D	129/136	Serum 30,75 Plasma 31,01	5,36 4,86	9,33 8,24	5,36 4,98	— 4,19	— 4,67	49,20 46,72	— —	— —	— —	— —	— —
H., R. Herzinfarkt	33	B, D	61/104	Serum 45,96 Plasma 43,72	11,92 7,10	14,89 15,30	14,47 10,93	— 10,93	— —	12,77 12,02	— —	— —	— —	— —	— —
H., G. Morbus Hodgkin	33	A $\frac{1}{1}$, D	103/134	Serum 51,04 Plasma 50,26	8,30 7,50	16,60 13,26	8,09 9,77	— 4,54	— —	15,98 14,66	— —	— —	— —	— —	— —
J., Fr. Bronchial-Ca. Bronchiektasen	58	0, d	46/80	Serum 48,60 Plasma 47,62	4,60 3,91	8,79 8,50	12,89 11,40	— 6,60	— —	25,12 21,77	— —	— —	— —	— —	— —
H., H. Amyloidose	20	0, D	109/140	Serum 15,69 Plasma 19,46	8,50 5,84	45,75 34,03	15,03 20,23	— 14,01	— —	15,03 5,84	— —	— —	— —	— —	— —
Sch., B. Chron. Polyarthritis	61	0, d	138/142	Serum 41,41 Plasma 39,42	10,50 7,96	18,70 13,56	9,54 9,00	— 12,65	— —	19,85 17,32	— —	— —	— —	— —	— —
K., B. Osteolyse li. Hüfte	58	A $\frac{1}{1}$ /cde	65/107	Serum 37,77 Plasma 39,80	7,91 7,63	24,64 23,22	11,69 13,27	— 4,98	— —	17,99 11,11	— —	— —	— —	— —	— —
K., A. Apoplekt. Ins. Leberzirrhose	38	A $\frac{1}{1}$, D	35/62	Serum 49,92 Plasma 51,72	3,27 3,45	6,55 6,55	8,66 7,76	— 5,86	— —	31,59 24,66	— —	— —	— —	— —	— —

vor, hinsichtlich der ϕ -Fraktion bestand in einem Fall eine geringe Fibrinogenvermehrung, in einem weiteren dieser Fälle eine Erhöhung der Fibrinogenfraktion über das Doppelte der Norm; die übrigen beiden Fälle zeigten normale Fibrinogenwerte.



A b b. 4 zeigt den Ausfall der Kreuzprobe zwischen Empfängerplasma (Plasma desselben Patienten wie oben), mit blutgruppen-
gleichen Spendererythrozyten

In 7 Fällen war die Serum-Kreuzprobe einwandfrei, d. h. sie ergab keine Agglutination. Davon wiesen aber 5 Fälle im Heparin-Plasma-Präparat eine deutliche Agglutination auf. Bei allen fünf Kranken lagen eine hohe Senkung und bis auf einen Fall auch eine starke Vermehrung der Fibrinogenfraktion vor. Bei 2 weiteren Patienten blieb die Plasma-Kreuzprobe unauffällig, beide hatten eine hohe Senkung, einer davon zeigte eine Fibrinogenvermehrung.

Auch bei dieser Gruppe III erfolgte auf Zusatz von Fibrinogen zu Serum und Plasma eine starke Agglutination — im Plasma wieder stärker als im Serum. Die Agglutination erfolgte auch in den Fällen, in welchen das unversetzte Serum keine Agglutination gezeigt hatte.

Die Untersuchung des Einflusses der Fibrinogenkonzentration auf die Agglutinationsreaktion ergab, daß ein Zusatz von

5 mg/ml nur teilweise eine Agglutination bewirkt. Bei Zusatz von 10 mg/ml trat in allen Fällen eine Agglutination auf, mit Plasma jeweils stärker als mit Serum. Eine weitere Steigerung der Fibrinogenkonzentration führte zu einer Intensivierung der Agglutinationsphänomene. — Kontrollversuche mit Natriumzitrat-Plasma ließen erkennen, daß hier auf Fibrinogenzusatz eine wesentlich schwächere Agglutination erfolgte als mit Heparin-Plasma. Dabei zeigte sich keine eindeutige Abhängigkeit von der BKS. Bei Heparin-Plasmen, die ohne Fibrinogenzusatz bereits gruppengleiche Erythrozyten agglutinierten, blieb das Natriumzitrat-Plasma gelegentlich sogar glatt, d. h. das entsprechende Natriumzitrat-Plasma bewirkte keine Agglutination der Erythrozyten.

Diskussion

Auf Grund der hier mitgeteilten Ergebnisse, wonach mit Fibrinogen angereicherte Seren und Plasmen in vitro erhöhte Agglutinationsbereitschaft zeigen, darf als wahrscheinlich angenommen werden, daß dem Fibrinogen, wenn es eine bestimmte Konzentration überschritten hat, eine ursächliche Bedeutung für Transfusionszwischenfälle zukommt. Da in den hier analysierten Fällen andere Faktoren, die zu Transfusionsunverträglichkeiten führen können, weitgehend ausgeschlossen werden konnten, gewinnt das vorliegende Ergebnis an Eindeutigkeit.

Zur Beurteilung der Agglutinationsphänomene bei den angesetzten Kreuzproben sei in Kürze folgendes hervorgehoben:

Aus den Vorversuchen ist ersichtlich, daß Agglutinationsreaktionen durch Zusatz von Fibrinogen zu Serum oder Plasma mit entsprechenden Spendererythrozyten ausgelöst werden können. Daß es sich dabei nicht um Gerinnungsvorgänge handelt, wird aus der gewählten Versuchsanordnung klar. Wesentlich ist, daß einerseits das Fibrinogen durch Heparin in Lösung gehalten wurde (2, 3, 20, 40) und daß andererseits, im Gegensatz zu einer echten Gerinnselbildung (1, 21, 24), die agglutinierten Erythrozyten wieder gelöst werden konnten. Auch andere Faktoren wie kapillare Kräfte oder Haftmomente dürften

in den vorliegenden Versuchen wegen entsprechender Vorbehandlung der Objektträger und Glasgefäße das Ergebnis nicht beeinflußt haben. Auch handelt es sich bei den Agglutinationsphänomenen nicht um eine spezifisch immunologische Reaktion, da ja kein System korrespondierender Antigen-Antikörper-Faktoren vorliegt. Im übrigen gilt auch hierfür die Beobachtungstatsache, daß die mit Fibrinogen hervorgerufenen Aggregate, im Gegensatz zu spezifischen Agglutinaten, wie sie etwa bei Blutgruppenunverträglichkeit auftreten, jeweils wieder durch kräftiges Schütteln in Lösung gebracht werden können (s. a. 12, 21, 29, 37).

In Analogie zu den *in vitro* und auch *in vivo* gegebenen Beobachtungen, daß bei erheblicher Dysproteinämie mit vorwiegender Anreicherung der Globuline des β - und γ -Bereiches Spontanagglutinationen auftreten können (31, 41, 42, 43, 47), ist zu vermuten, daß auch das Fibrinogen, das ja ein Globulin vom Typ der β/γ -Globuline darstellt, unspezifische Agglutinationsreaktionen auszulösen vermag.

Der Zusatz von Fibrinogen zu Serum sollte lediglich als Modellversuch zum Studium der Auswirkungen des ϕ -Globulins auf die Kreuzprobe dienen.

Ungeachtet dessen, daß die genaueren Zusammenhänge des Einflusses von Fibrinogen auf die Agglutinabilität von Erythrozyten noch nicht aufgeklärt sind, muß bei Transfusionszwischenfällen auch die Möglichkeit eines an das im strömenden Blut vorhandene Fibrinogen gebundenen Faktors diskutiert werden. Das Fibrinogen kann im normalen Plasma wegen seiner geringen Konzentration unberücksichtigt bleiben. Es ist jedoch nach dem Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen anzunehmen, daß es in Fällen mit exzessiver Vermehrung des Fibrinogens zu unspezifischen Transfusionsreaktionen kommen kann. Es wäre allerdings weiterhin zu klären, ob das Fibrinogen unter krankhaften Bedingungen nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ verändert auftreten

und gewissermaßen als abartiges Protein zu Transfusionszwischenfällen Anlaß geben kann.

Aus den aufgezeigten Untersuchungsergebnissen folgt somit, daß in zweifelhaften Fällen neben der Serum-Kreuzprobe auch eine Kreuzprobe gegen Empfängerplasma angestellt werden sollte, um Transfusionszwischenfälle zu verhüten, wie sie sich allein schon aus einer Vermehrung bestimmter Globuline, hier insbesondere des Fibrinogens entwickeln können.

Zusammenfassung

Vergleichende Untersuchungen an 31 Seren und Plasmen über Teilfaktoren einer Spontanagglutination mit gruppengleichen Spendererythrozyten haben folgende Einzelheiten ergeben:

1. Gruppe: Bei Gesunden mit normaler Senkungsreaktion, normaler Serum- bzw. Plasmaprotein-Relation führte die Kreuzprobe weder mit Serum noch mit Plasma zu einer Spontanagglutination gruppengleicher Spendererythrozyten.

2. Gruppe: Während Seren von Kranken mit beschleunigter Senkung, Dysproteinämie sowie vermehrtem Fibrinogengehalt einwandfreie Kreuzproben mit gruppengleichen Spendererythrozyten ergaben, führten die mit Plasma dieser Patienten angesetzten Kreuzproben vereinzelt zur Spontanagglutination.

3. Gruppe: Seren von Kranken mit starker Senkungsbeschleunigung, erheblicher Dysproteinämie und stärkerer Fibrinogenvermehrung zeigten zum Teil bereits in der Kreuzprobe mit Serum und fast regelmäßig mit Plasma eine Spontanagglutination gruppengleicher Erythrozyten.

Zusatz von Fibrinogen zu Serum und Plasma führte in sämtlichen 3 Gruppen zur Spontanagglutination, wobei der Grad der Agglutination im Plasma jeweils stärker als im entsprechenden Serum war.

Die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Klinik wird erörtert.

Literatur

- (1) Achenbach, W.: Erg. Bluttr.forsch. III, Bibl. haematol. **6**, 93 (1957). — (2) Aman, R., and E. Werle: Klin. Wschr. **35**, 22 (1957). — (3) Burstein, M., et A. Guinand: Arch. int. Pharmacodyn. **104**, 435 (1956). — (4) Cohn, E. J.: Exper. **3**, 125 (1947). — (5) Cohn, E. J., J. A. Luetscher jr., J. L. Oncley, S. H. Armstrong jr. and B. D. Davis: J. Amer. Soc. **62**, 3396 (1940). — (6) Cohn, E. J., L. E. Strong, W. L. Hughes jr., D. G. Mulford, J. N. Ashworth, M. Mellin and H. L. Taylor: J. Amer. Soc. **68**, 459 (1946). — (7) Dahr, P.: Die Technik der Blutgruppen- und Blutfaktorenbestimmung. 4. Aufl., Thieme-Verlag, Stuttgart **1948**: VI. — (8) Dahr, P., und E. Regenbogen: Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion. 4. Aufl., Thieme-Verlag, Stuttgart **1948**: VI. — (9) Dahr, P., und J. Wolff: Dtsch. med. Wschr. **1947**: 613. — (10) Dausset, J.: Arch. int. Med. **85**, 416 (1950). — (11) Deutsch, E., und H. Fuchs: Acta haematol. **20**, 97 (1958). — (12) Edelbacher, S., und F. Leuthardt: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 10. Aufl., Verlag Walter de Gruyter, Berlin **1952**, S. 95, 430, 440, 441, 443, 446, 447, 696. — (13) Edsall, J. T.: Adv. Protein. Chem. **3**, 383 (1947). — (14) Götz, H., und F. Scheiffarth: Z. Naturforsch. **14b**, 37 (1959). — (15) Götz, H., G. Berg und F. Scheiffarth: Z. Immunit. forsch. **114**, 72 (1957). — (16) Grabar, P.: a) Bull. Soc. Chim. biol. **36**, 65 (1954); b) Dtsch. med. Wschr. **1954**: 1916; c) Zbl. Bakteriologie. **164**, 15 (1955). — (17) Grabar, P., et C. A. Williams: a) Biochim. biophys. Acta **10**, 193 (1953); b) Biochim. biophys. Acta **17**, 67 (1955). — (18) Hässig, A.: Bibl. haematol. **2**, 127 (1955). — (19) Heim, W., und P. Dahr: Einrichtung und Arbeitsweise einer Blutbank. Thieme-Verlag, Stuttgart **1954**. — (20) von Kaulla, F., N. Kurt and T. S. McDonald: Blood **13**, 811 (1958). — (21) Koller, F.: Dtsch. med. Wschr. **81**, 516 (1956). — (22) Landsteiner, K., P. Levine and M. L. Janes: Proc. Soc. exper. Biol., N. Y. **25**, 672 (1928). — (23) van Loghem, J., D. E. Mendes de Leon und M. van der Hart: Bibl. haematol. **2**, 84 (1955). — (24) Marggraf, W.: Erg. Bluttr. forsch. III, Bibl. haematol. **6**, 108 (1957). — (25) Marquard, P.: Erg. Bluttr. forsch. II, Bibl. haematol. **5**, 16 (1955). — (26) Moeller, J.: Erg. Bluttr. forsch. I, Bibl. haematol. **2**, 28 (1955). — (27) Möller, H.: Erg. Bluttr. forsch. II, Bibl. haematol. **5**, 76 (1956). — (28) Mül-

ler, W.: Dtsch. med. Wschr. **1958**: 291. — (29) de Nicola, P.: Erg. Bluttr.forsch. III, Bibl. haematol. **6**, 121 (1957). — (30) Nitschmann, H., P. Kistler und W. Lergier: Acta Helv. **37**, 866 (1954). — (31) Ott, H.: Bibl. haematol. **2**, 52 (1955). — (32) Polak, A., and M. Fischer-Hermann: Lancet **I**, 1042 (1958). — (33) Preuner, R.: Erg. Bluttr.forsch. II, Bibl. haematol. **5**, 8 (1956). — (34) Rasch, H. L.: Lehrbuch der Blutgruppenkunde. Walter de Gruyter, Berlin **1954**. — (35) Reissigl, H.: Erg. Bluttr.forsch. II, Bibl. haematol. **5**, 40 (1956). — (36) Rosenthal, A.: Bibl. haematol. **2**, 140 (1955). — (37) Salmon, J., et J. Bounameaux: Thromb. diath. haemorrh. **2**, 93 (1958). — (38) Scheiffarth, F., G. Berg und H. Götz: Hoppe-Seyler Z. physiol. Chem. **302**, 126 (1955). — (39) Schostok, W.: Erg. Bluttr.forsch. I, Bibl. haematol. **2**, 83 (1955). — (40) Seitz, W.: Z. klin. Med. **145**, 314 (1949). — (41) Spielmann, W.: Bibl. haematol. **2**, 7 (1955). — (42) Stahl, R., und G. Dlugosch: Bluttransfusion **3**, 15 (1954). — (43) Vettel: Dtsch. med. Wschr. **1949**: 599. — (44) Wigand, H.: a) Erg. Bluttr.forsch. II, Bibl. haematol. **5**, 30 (1956); b) Bibl. haematol. **2**, 133 (1955). — (45) Williams, C. A., and P. Grabar: a) J. Immunol. **74**, 158 (1955); b) J. Immunol. **74**, 397 (1955); c) J. Immunol. **74**, 404 (1955). — (46) Wollheim, E.: Erg. Bluttr.forsch. III, Bibl. haematol. **6**, 73 (1957). — (47) Wuhrmann, F.: a) Schweiz. med. Wschr. **82**, 937 (1952); b) Blut **1**, 64 (1955). — (48) Wunderly, Chr.: Nature **163**, 217 (1949).

Lebenslauf

Am 28. 6. 1935 wurde ich, Helga Renate Gudrun Wehlte, als Tochter des Wirtschaftsprüfers Alfons Wehlte und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Sparmann, in Dresden geboren.

Von 1941 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in Dresden, anschließend von 1949 bis 1951 die neusprachliche Abteilung der Oberschule Ost in Dresden, von 1951 bis 1953 die Kreuzschule in Dresden. Im Juni 1953 bestand ich dort das Abitur. Im September 1954 begann ich das Medizinstudium an der Karl-Marx-Universität in Leipzig, legte 1955 dort das Vorphysikum ab und setzte 1956 im Sommersemester das Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen fort. 1957 bestand ich das Physikum. Nach sechs klinischen Semestern legte ich dann in Erlangen das Staatsexamen am 4. 8. 1960 ab und promovierte im Dezember 1960 in Erlangen.

